

суммарной концентрации нитритов в плазме и эритроцитах. Объяснение последнего факта требует проведения дальнейших исследований, раскрывающих механизм взаимодействия оксида азота и гемоглобина.

Данная работа выполнена частично благодаря финансовой поддержке Фонда фундаментальных исследований РБ (№ Б03-019).

Литература

1. Зинчук В.В. Участие оксида азота в формировании кислородсвязующих свойств гемоглобина. // Успехи физиологических наук. – 2003, апрель-июнь, 34 (2) - с. 33-45.
2. Gladwin M.T., Wang X., Reiter Ch.D., Yang B.K., Vivas E.X., Bonaventura C., Schechter A.N. S-nitrosohemoglobin is unstable in the reductive erythrocyte environment and lacks O₂/NO-linked allosteric function. // The Journal of Biological Chemistry. - V.277, No 31, August 2, 2002 - p. 27818-27828.
3. Gow A.J., Luchsinger B.P., Pawloski J.R., Singel D.J., Stamler J.S. The oxyhemoglobin reaction of nitric oxide. // Procl. Natl. Acad. Sci. USA. – 1999, Vol. 96, № 16 – pp. 9027-9032.
4. McMahon T.J., Stone A.E., Bonaventura J., Singel D.J., Stamler J.S. Functional Coupling of Oxygen Binding and Vasoactivity in S-Nitrosohemoglobin. // J. Biol. Chem. - Vol. 275, Issue 22 – June 2, 2000 – pp. 16738-16745.

Памяти Р. Росса

ЭНДОТЕЛИН-1 КАК УЧАСТНИК ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ ЦИТОКИНОВОЙ СЕТИ ПРИ АТЕРОСКЛЕРОЗЕ

Тепляков А.И.

***Республиканский диспансер экологической и профессиональной
патологии, г. Могилев***

Мы предполагаем, что клеточные координационные взаимодействия формируют цитокиновую сеть, которая гарантирует их мобильный баланс [1], а ее дисбаланс способствует прогрессирующему течению атеросклероза и его осложнений. Процесс развивается при воздействии любого агента, вызывающего повреждение эндотелия, которое характеризуется чрезмерной репарацией, в ответ на воздействие любого провоспалительного сигнала физической или химической природы, которое не достигает степени, вызывающей гибель клетки по типу некроза

[1,2]. Нами установлено, что высвобождение провоспалительных цитокинов является ни чем иным, как быстрой активационной реакцией, в частности при изменении биофизических (гемореологических) и биохимических (свертывание крови) констант. **Целью** настоящей работы явился анализ влияния ET-1 на про- и противовоспалительные цитокиновые программы и адгезивный каскад, представленный sP-, sE-selectins, sICAM-1 и sVCAM-1.

Материалы и методы исследований

Объектом исследования послужили 29 пациентов с различными формами атеросклеротического поражения магистральных артерий. Для оценки влияния ET-1 на состояние цитокиновой сети и растворимых молекул эндотелиального происхождения нами разработана собственная методика исследования [1]. Два типа реакций предложены как адекватно отражающие исследуемые явления: свертывание крови с инкубацией сгустка в течении 6 часов при 37°C как модель тромбообразования и высокие напряжения сдвига на ротационном вискозиметре (100 s^{-1} , 60 sec. при 37 °C и инкубации в течении 6 часов также при 37 °C). Мы не исключали из экспериментальной модели растворимые молекулы эндотелиального происхождения, однако, образцы крови были полностью лишены эндотелиоцитов. Таким образом, концентрации ET-1, sE-и sP-селектины, sICAM-1 и sVCAM-1 и их изменение до и после проведенных моделирующих тестов были измерены при помощи иммуноферментного анализа (ELISA, R&D Systems, UK) на фотометре "Biotech-1000" (Beckman, USA).

Уровни IL-1a, IL-1b, IL-6, IL-8 и IL-10 были измерены аналогичным методом, согласно разработанной модели.

Результаты и их обсуждение

Исходные концентрации IL-1b, IL-6, ET-1, sP-, sE-селектинов, sICAM-1, sVCAM-1 оказались существенно повышенными по сравнению с допустимыми величинами, тогда как концентрации IL-1a, IL-8 и IL-10 не превышали допустимых величин [1]. Так, мы обнаружили тесную связь между исходными уровнями ET-1 и IL-1a ($r=0.65$, $p<0.05$). В то же время, исходный уровень ET-1 оказался отрицательно связанным с IL-6 ($r=-0.67$, $p<0.05$).

Нас заинтересовал факт повышения уровня ET-1 после двух тестов почти в полтора раза. Более того, уровни IL-1a, IL-1b, IL-6, IL-8, IL-10 (но не sICAM-1 и sVCAM-1) были повышены на порядок по сравнению с исходными значениями, тогда как концентрации sP- и sE-селектинов оказались сниженными статистически значимо [1,2].

Полученные результаты еще раз указали на воспалительный характер изучаемых реакций даже в отсутствии эндотелия, но при наличии

его представителей – растворимых молекул эндотелиального происхождения. В то же время, анализ указал на наличие тесных связей между снижением уровня ET-1 и повышением концентраций других цитокинов: IL-1b $r=0.73$, $p<0.05$; IL-6 $r=-0.60$, $p<0.05$. Однако, отрицательные обратные связи с IL-8 ($r=-0.70$, $p<0.05$) и аналогичный характер связи с IL-10 ($r=-0.98$, $p<0.05$) вызвали наше удивление. Более того, результаты указывают, что изменение гемодинамических параметров является мощным триггером дисбаланса цитокиновой сети (посредством воздействий напряжений сдвига на экспрессию генов или шеддинг? Для подтверждения этого необходимы дополнительные исследования). Таким образом, ET-1 является одним из активных участников регуляции цитокиновой сети и может быть отнесен к цитокиноподобным молекулам.

Более того, помимо цитокинов ET-1 участвует в регуляции прежде всего молекул эндотелиального происхождения. Так, ET-1 и E-селектин тесно отрицательно коррелируют между собой в указанных моделях ($r=-0.90$ and -0.89 , $p<0.05$). Исходный уровень sVCAM-1 тесно коррелирует с высвобождением ET-1 ($r=0.88$, $p<0.05$) после реологического стресса. Молекулярные механизмы описанных явлений остаются до сих пор неясными. Известно, что VCAM-1 не экспрессируется на покоящихся эндотелии, в отличие от эндотелия, активированного внешними воздействиями. VCAM-1 связывается с лейкоцитарным интегрином (VLA-4) [3]. Результаты нашего исследования показали, что и sVCAM-1 и растворимые селектины сохраняют полный спектр функциональной активности. Повышенный исходный уровень молекул эндотелиального происхождения привлекают большое внимание к ним как к возможным кандидатам для диагностики эндотелиальной дисфункции. Таким образом, sVCAM-1 регулирует высвобождение ET-1 из неизвестного клеточного источника, тогда как тесные связи между исходными уровнями IL-6 и ET-1 после гемодинамического стресса ($r=-0.97$, $p<0.05$) указывают на превентивную роль IL-6. После теста свертывания крови мы получили дополнительное подтверждение, поскольку высокие напряжения сдвига в этом эксперименте не заинтересованы: реологические условия неадекватны для реализации функционального потенциала селектинов [4]. Однако, свертывание крови является мощным источником изменения состояния цитокиновой сети: мы обнаружили сохранение значительного числа связей между концентрациями молекул и в этом тесте (исходный уровень ET-1 положительно коррелировал с sICAM-1 ($r=0.66$, $p<0.05$) и sVCAM-1 ($r=0.72$, $p<0.05$), хотя в появлении этих молекул заинтересованы совершенно различные механизмы. На основании приведенных данных мы пришли к выводу, что реализация цитокиновой программы в обоих тестах требует и участия различных рецепторных ансамблей. В частности, молекулы эндотелиального происхождения как представители эндотелия сохраняют весь спектр функциональной активности даже в отсутствии

эндотелия. Более того, растворимые селектины обладают свойствами протекторов дисбаланса цитокиновой сети, тогда как ET-1 и представители суперсемейства иммуноглобулинов вызывают патологический характер реакций. Мы предполагаем, что антагонисты ET-1 и, особенно, VCAM-1 могут иметь важное значение в диагностике ранних стадий и лечении осложненных форм атеросклероза.

Автор выражает признательность жене Тепляковой Д.В. и Чернегину К.В. без которых эта публикация бы не состоялась.

Литература

1. Teplyakov A.I., Preschepova A.V., Kruchinsky N.G., et al. 2000. Cytokines and soluble cell adhesion molecules: possible markers of inflammatory response in atherosclerosis. Ann. N.Y. Acad. Sci. 902:320-323.
2. Teplyakov A.I., Pryshepova A.V., Chegerova T.I. 2001. Chromatin image analysis provides new evidence of the relation of lymphocytes to cytokines and sCAM in the inflammatory nature of atherosclerosis. Ann. N.Y. Acad. Sci. 947:377-381.
3. Gearing A.J. et al. 1992. Soluble Forms of Vascular Adhesion Molecules, E-selectin, ICAM-1, and VCAM-1: Pathological Significance. Ann. N.Y. Acad. Sci. 667: 324-331.
4. Tedder T. F. et al. 1995. The Selectins: Vascular Adhesion Molecules. FASEB J. 9:866-873.

ЭНДОТЕЛИН-1 И ЭПИГЕНЕТИЧЕСКАЯ ТОПОГРАФИЯ ИНТЕРФАЗНОГО ХРОМАТИНА ЯДЕР ЛИМФОЦИТОВ ПРИ АТЕРОСКЛЕРОЗЕ

Тепляков А.И.

*Республиканский диспансер экологической и профессиональной
патологии, г. Могилев*

The aim of our study is the analysis of the changes of lymphocyte interphased chromatin and ET – 1 topography in atherosclerosis, i.e to determine the contribution of ET-1 in lymphocyte functioning. 16 patients with the different forms of atherosclerotic damage of magistral arteries. have been observed. 2 types of functional reactions on 2 type affections: blood coagulation (incubation of blood thrombus within 6 hours 37°C) and influence of standard high change tension (100 s –1, 60 sec. in 37°C with the following incubation within 6 hours 37°C) in comparison with the initial data. Lymphocyte nuclear chromatin has been studied by means of computer TV